R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA
LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA

24.

R. PEROTTI e G. MOSCHINI

CONTRIBUZIONI ALLA CONOSCENZA DEI FERMENTI DELL'UVA "SANGIOVESE,,

PISA
STABILIMENTO EDITORIALE VALLERINI
1929

24.

R. PEROTTI e G. MOSCHINI

CONTRIBUZIONI ALLA CONOSCENZA DEI FERMENTI DELL'UVA "SANGIOVESE"

Lo scorso anno, in questo Laboratorio, furono studiati i fermenti e i processi fermentativi dell'uva « Colombana ».[1]

Sempre nell'intento di seguire l'andamento della vinificazione dei mosti locali, in quest'anno, fu presa in considerazione l'uva così detta « Sangiovese », diffusissima in Toscana ed ivi molto apprezzata nella fabbricazione dei vini da pasto.

Nell'autunno 1927 fu preparata una conveniente quantità di mosto che fu conservato sterile, prelevandosene, via via, quantità necessarie allo studio.

L'isolamento dei fermenti fu eseguito a mezzo di colture a piatto di agar-fagiuoli e di agar-mosto inoculate con materiale proveniente da mosto in spontanea fermentazione.

In breve tempo si svilupparono numerose le colonie di saccaromiceti; e di cinque tra esse, fra le più tipiche si eseguirono trapianti su becchi di flauto all'agar-fagiuoli e all'agar-mosto.

Con questi trapianti si praticò l'isolamento monocellulare di cinque stipiti con il metodo delle camerette di Lindner.[2] Lo studio, però si portò più dettagliatamente su due soltanto di essi più caratteristici.

---

[1] PEROTTI R. e BINDI E. — *Contribuzioni alla conoscenza dei fermenti dell'uva « Colombana »*. - Boll. R. Ist. Sup. Agrario, Pisa, 1927.

[2] PEROTTI R. — *Tecnica di Biologia Vegetale applicata all'Agricoltura*. - Roma, 1928, pag. 65.

Gli stipiti isolati dettero, allo stato fresco, le seguenti dimensioni:

Stipiti	1	μ	6-6,4 × 2-3
»	2	»	6 × 2-3
»	3	»	5-5,5 × 4
»	4	»	4 × 2-3
»	5	»	3,7 × 2-3

La forma delle cellule degli stipiti 1 e 2 è tipicamente ellittica; quella dello stipite 3 un poco meno allungata; quella, infine, degli stipiti 4 e 5, prevalentemente tondeggiante.

Stipite 1 (v. Tav. I). — Su agar-mosto le colonie nane di questo stipite sono piccole, isolate, opache, bianco-roseo, circolari; hanno profilo leggermente rilevato e regolare, margine continuo, struttura omogenea.

Le colonie giganti raggiungono con una certà rapidità notevoli dimensioni; sono fortemente rilevate e depresse al centro, di colore bianco-opaco, a contorno leggermente frastagliato.

Lo striscio, eseguito su agar-mosto, fu anch'esso di rapido sviluppo e dette patina continua, estesa, opaca, bianca, poltacea, liscia, a margine continuo.

Stipite 2. — I caratteri morfologici di questo stipite sono analoghi a quelli del precedente.

Stipite 3. — Su agar-fagiuoli le colonie nane sono piccole, isolate, opache, bianche, circolari, regolarmente rilevate, a margine continuo, struttura omogenea.

Le colonie giganti sono più piccole di quelle degli stipiti 1 e 2. Hanno sviluppo rapido, forma circolare; non sono molto rilevate, ma depresse al centro.

Le colture a strisciamento, presentano caratteri analoghi a quelli degli stipiti precedenti.

Stipite 4. — La descrizione di questo stipite può riferirsi per i suoi caratteri morfologici a quella dello stipite 3.

Stipite 5 (v. Tav. 2). — Le colonie nane si presentano in modo del tutto simile a quelle dello stipite 3.

Le colonie giganti sono un poco più piccole; hanno sviluppo meno rapido; sono più rilevate e frastagliate; meno depresse.

Le colture a striscio, ad eccezione del loro sviluppo un poco più lento, non presentano, in confronto alle altre, caratteri degni di nota.

***

Le indagini sul processo fermentativo furono eseguite per determinare l' andamento della fermentazione del mosto allo stato naturale, in confronto di quello previamente addizionato di fosfato ammonico e di acido tartarico. Il primo fu aggiunto sempre nelle proporzioni dell'1 °/₀, essendo risultato dagli studi di Perotti e Bindi essere questa la concentrazione più favorevole; il secondo fu aggiunto, invece, in proporzioni diverse.

Si operò su cc. 100 di liquido, chiuso in Erlenmeyer di 250 cc., che si mantennero a temperatura ambiente (20°-24° C.) dopo inoculazione con gli stipiti 1 e 5.

I risultati avuti al quindicesimo giorno di coltura furono i seguenti:

	Alcool °/₀	
	Stipite 1	Stipite 5
mosto naturale	12 —	10,70
id- + fosf. amm. 1 °/₀	12 —	10 —
id. + id. + ac. tart. 0,1 °/₀₀	12,70	10,90
id. + id. + id. 0,25 »	12,50	11,40

							Alcool %	
							Stipite 1	Stipite 5
mosto naturale	+	fosf. amm. 1 %	+	ac. tart.	0,50 ‰		12,60	11 —
id.	+	id.	+	id.	1 — »		12 —	10,80
id.	+	id.	+	id.	2,50 »		11,70	10,30
id.	+	id.	+	id.	5 — »		10,90	10 —

Sebbene non si sia ottenuto alcun maggior rendimento in alcool la fermentazione del mosto contenente fosfato ammonico — come fu rilevato altra volta [5] — ebbe più rapido inizio ad uno svolgimento più energico.

L'aggiunta di acido tartarico favorisce od ostacola, relativamente alle quantità aggiunte, la formazione dell'alcool.

Nelle beute inoculate con lo stipite 1 si ebbe maggiore aumento di alcool ove l'acido tartarico venne addizionato in quantità pari allo 0,1 ‰; quindi si ebbe progressiva diminuzione fino a raggiungersi il grado alcoolico del mosto fermentato naturalmente. Oltre il 2,5 per 1000 si produssero quantità di alcool sensibilmente inferiori.

Nelle bente inoculate con lo stipite 5 l'inizio della fermentazione fu più lento, come furono sempre minori le quantità d'alcool prodotte. Il maggior incremento alcoolico si ebbe con l'aggiunta di acido tartarico al 0,25 ‰; tra l'1 e il 2 ‰ si ottenne produzione di alcool pari circa a quella data dal mosto in fermentazione naturale; oltre il 2,5 ‰ il titolo alcoolico decresce notevolmente.

Altra indagine praticata fu la determinazione del « potere fermentativo » dei due stipiti in esame nel mosto naturale ed in quello con aggiunte varie di fosfato ammonico e di acido tartarico.

---

[5] PEROTTI R. e BINDI E. — *Op. cit.*

Per la determinazione volumetrica dell'anidride carbonica prodotta si usò un piccolo dispositivo nel modo qui appresso descritto.

In una provetta graduata, chiusa ad una estremità, veniva posta una nota quantità di mosto, quindi il tubo tappato con ovatta, veniva sterilizzato in corrente di vapore nel mentre veniva pure sterilizzato un tappo di sughero munito all'estremità più breve di un sottile tubo piegato a doppia squadra. A sterilizzazione avvenuta, il substrato era inoculato con il fermento in esame; il tampone di ovatta veniva per metà reciso e sostituito con il sughero di cui sopra. Indi il piccolo apparecchio si capovolgeva e sospendeva su di una vasca di raccoglimento.

Dopo alcun tempo la fermentazione si iniziava. La differenza di livello raggiunta dal mosto prima delle fermentazione e a fermentazione avvenuta rappresentava la totale quantità di anidride carbonica sviluppatasi nelle differenti condizioni di esperienza.

Prove eseguite con lo stipite 1.

Fu operato sia su mosto naturale, come su mosto addizionato di sostanze.

Nel primo caso la fermentazione si iniziò al 3.° giorno: con l'aggiunta di fosfato ammonico essa ebbe un anticipo di 24 ore. Quando, oltre ad esso, si aggiungeva acido tartarico l'inizio della fermentazione si verificava al 3.° giorno per dosi comprese tra lo 0,5-2,5 $^{0}/_{00}$; al 4.° giorno per quella al 5 $^{0}/_{00}$.

Relativamente alla produzione di anidride carbonica, nel primo giorno di fermentazione (impulso fermentativo) si ebbero i seguenti dati:

							CO_2 *sviluppata* cc.
mosto naturale							1,10
id.	+	fosfato amm. 1 %					1 —
id.	+	id.	+	ac. tartarico	0,1	‰	2,10
id.	+	id.	+	id.	0,25	»	1,90
id.	+	id.	+	id.	0,50	»	1,80
id.	+	id.	+	id.	1 —	»	1,60
id.	+	id.	+	id.	2,50	»	1,60
id.	+	id.	+	id.	5 —	»	1,30

Nel secondo giorno l'incremento della formazione di anidride carbonica fu più considerevole:

							CO_2 - cc.
mosto naturale							2 —
id.	+	fosfato amm. 1 %					2,10
id.	+	id.	+	ac. tartarico	0,1	‰	3,40
id.	+	id.	+	id.	0,25	»	2,50
id.	+	id.	+	id.	0,50	»	2,50
id.	+	id.	+	id.	1 —	»	2,40
id.	+	id.	+	id.	2,50	»	2,40
id.	+	id.	+	id.	5 —	»	1 —

Nel terzo giorno di fermentazione lo sviluppo di anidride carbonica si mantenne entro i limiti del precedente giorno.

Nel quarto-sesto giorno l' incremento fu leggerissimo.

Dal settimo al quindicesimo giorno il livello del tubo si mantenne costante, quindi al sesto giorno la formazione di anidride carbonica poteva ritenersi arrestata.

Prove eseguite con lo stipite 5.

La fermentazione del mosto naturale ebbe inizio al 4.° giorno; così pure dove fu aggiunto soltanto fosfato ammonico e dove con esso erano presenti quantità di acido tartarico pari al 0,1-0,25 ‰. Al 3.° giorno, invece, aveva inizio con

acido tartarico all' 1 °/₀₀ ed al 5.° quando la concentrazione di acido tartarico raggiungeva il 2,50 e 5 °/₀₀.

Durante il primo giorno di fermentazione si ebbe pochissima formazione di anidride carbonica.

Nel secondo giorno le quantità di essa prodottesi furono le seguenti:

	CO_2 - cc.
mosto naturale	0,70
id. + fosfato amm. 1 °/₀	0,70
id. + id. + ac. tartarico 0,1 °/₀₀	1,20
id. + id. + id. 0,25 »	1 —
id. + id. + id. 0,50 »	1 —
id. + id. + id. 1 — »	1,50
id. + id. + id. 2,50 »	1,50
id. + id. + id. 5 — »	0,60

Nel terzo giorno andò, in genere, aumentando:

	CO_2 - cc.
mosto naturale	1,60
id. + fosfato amm. 1 °/₀	1,40
id. + id. + ac. tartarico 0,1 °/₀₀	1,90
id. + id. + id. 0,25 »	1,90
id. + id. + id. 0,50 »	1,70
id. + id. + id. 1 — »	1,30
id. + id. + id. 2,50 »	1,30
id. + id. + id. 5 — »	1 —

Nel quarto giorno andò decrescendo, riportandosi circa a poco più del secondo giorno.

Nei giorni seguenti a questo si ebbero piccolissimi incrementi che continuarono fino all'undicesimo giorno dopo del quale il livello del gas nella provetta si mantenne costante.

Nel quadro che segue vengono riassunti i dati relativi a tutte le osservazioni giornaliere:

	SUBSTRATO	Quantità di CO_2 sviluppatesi nei giorni di esperienza													Totale di CO_2 sviluppatasi cc.
		1	2	3	4	5	6	4	8	9	10	11	12	13	
STIPITE I.	mosto naturale	1,1	2.0	1,0	0,2	0,1	0,05	—	—	—	—	—	—	—	4,45
	id. + fosf. amm. 1 %	1,0	2,1	1,1	0,2	0,05	0,05	—	—	—	—	—	—	—	7,50
	id. + id. + ac. tart. 0,1 ‰	2,1	3,4	2,0	0,5	0,5	0,4	—	—	—	—	—	—	—	8,90
	id. + id. + id. 0,25 »	1,9	2,5	2,0	0,4	0,4	0,3	—	—	—	—	—	—	—	7,50
	id. + id. + id. 0,50 »	1,8	2,5	1,9	0,3	0,3	0,2	—	—	—	—	—	—	—	7,—
	id. + id. + id. 1 — »	1,6	2,4	1,7	0,3	0,2	0,2	—	—	—	—	—	—	—	6,40
	id. + id. + id. 2,5 »	1,6	4,2	1,6	0,2	0,2	0,2	—	—	—	—	—	—	—	6,20
	id. + id. + id. 5 — »	1,3	1,00	1,3	0,1	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	3,75
STIPITE V.	mosto naturale	0,05	0,7	1,6	0.8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	—	—	4,25
	id. + fosf. amm. 1 %	0,1	0,7	1,4	0,8	0,15	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	—	—	4,05
	id. + id. + ac. tart. 0,1 ‰	0,25	1,2	1,9	1,0	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	—	—	5,55
	id. + id. + id. 0,25 »	0,2	1,0	1,9	1,1	0,2	0,15	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	5,05
	id. + id. + id. 0,50 »	0,1	1,0	1,7	1,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05	—	—	4,45
	id. + id. + id. 1 — »	0,1	1,5	1,3	1,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,05	—	—	—	—	4,65
	id. + id. + id. 2,50 »	0,05	1,5	1,3	1,2	0,1	0,05	0,05	0,05	—	—	—	—	—	4,30
	id. + id. + id. 5 — »	—	0,6	1,0	0,7	0,05	0,05	0,05	0,05	—	—	—	—	—	2,50

Nei riguardi dello sviluppo di anidrire carbonica, queste prove indicano che:

1.) dei due stipiti studiati lo stipite 1 ha dimostrato un potere fermentativo sensibilmente superiore a quello dello stipite 5;

2.) l'aggiunta di solo fosfato ammonico non da apprezzabili migliori risultati;

2.) l'aggiunta di acido tartarico oltre a quella del fosfato ammonico può considerevolmente favorire il potere fermentativo;

4.) la proporzione più favorevole di acido tartarico impiegato risultò essere il 0,1 $^0/_{00}$.

CONCLUSIONI.

Riassumendo, è stato messo in evidenza come il mosto di uva « Sangiovese » — inoculato con fermenti selezionati, con o senza opportune aggiunte — si presta ad una fermentazione alcoolica particolarmente energica.

Le diverse razze di saccaromiceti in esso sviluppantisi posseggono diverso potere fermentativo; ma dalla selezione di esse se ne possono ottenere alcune che presentino tale potere in misura rilevante.

Resta comprovato il vantaggio che risentono i processi fermentativi dall'aggiunta di sali fosfati (1 °/₀).

Viene messo in evidenza che i fenomeni sono pure esaltati da moderate aggiunte di acido tartarico (0,1-0,2 °/₀₀).

Pisa, dal Laboratorio di Batteriologia Agraria del R. Istituto Superiore Agrario, ottobre 1928 - VII.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

TAV. I. — *Stipite 1:*

fig. 1 - colonie nane,
» 2 - » giganti,
» 3 - strisciamento,
» 4 - microfotografia.

TAV. II. — *Stipite 2:*

fig. 1 - colonie nane,
» 2 - » giganti,
» 3 - strisciamento,
» 4 - microfotografia.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

TAV. I. — *Stipite 1:*

fig. 1 - colonie nane,
» 2 - » giganti,
» 3 - strisciamento,
» 4 - microfotografia.

TAV. II. — *Stipite 2:*

fig. 1 - colonie nane,
» 2 - » giganti,
» 3 - strisciamento,
» 4 - microfotografia.

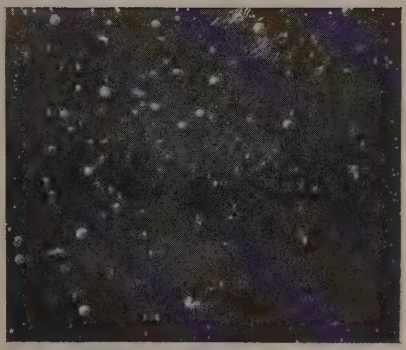

FIG. 1.

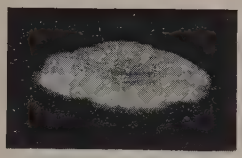

FIG. 2.

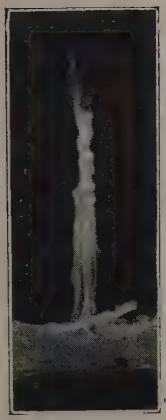

FIG. 3.

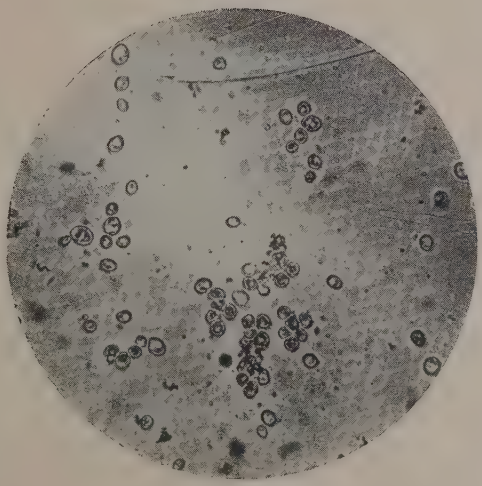

FIG. 4.

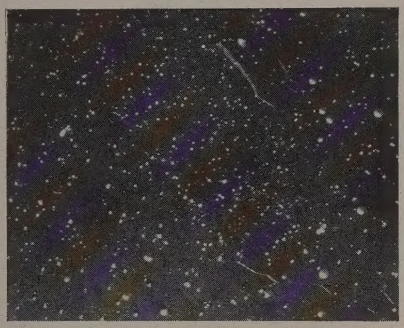

FIG. 1.

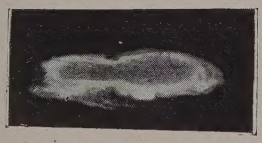

FIG. 2.

FIG. 3.

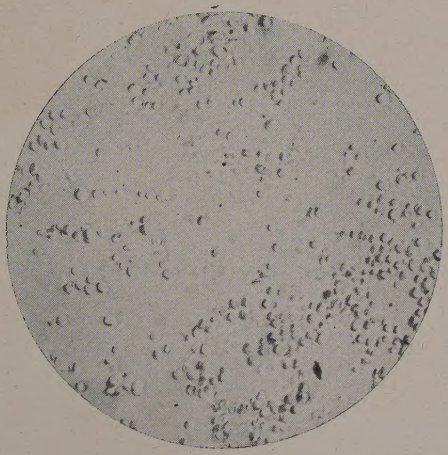

FIG. 4.